

Gélose Tryptone-soja
(base pour gélose au sang)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Tryptone-soja, qui est utilisée comme milieu de base destiné à être additionné de sang, est préparée avec des matières premières sélectionnées qui ne la brunissent pas. Elle est spécialement conçue pour mettre en évidence les réactions hémolytiques et pour favoriser la croissance des germes particulièrement exigeants aérobies et anaérobies. Elle est également utilisée pour pratiquer le test de CAMP ou encore pour la confirmation des *Legionella* dans les eaux.

PRINCIPES

- L'association entre la Tryptone et la peptone de soja permet l'obtention d'une croissance optimale qui est due à la synergie réalisée entre l'apport protidique de la caséine et l'apport glucidique du soja.
- Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.
- Le sang de mouton défibriné stérile, utilisé pour enrichir le milieu, favorise l'obtention d' hémolyses bien caractéristiques

PREPARATION

- Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté (BK028) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

MODE D'EMPLOI

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance).
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.
- Ajouter stérilement les additifs nécessaires à la culture des bactéries recherchées (sang défibriné stérile de mouton ou de cheval, accélérateurs de croissance, agents sélectifs).
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer l'inoculum.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures en aérobiose ou sous atmosphère enrichie en CO_2 pour les *Brucella*.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

LECTURE

Les streptocoques hémolytiques du groupe A de Lancefield apparaissent sous la forme de petites colonies grises, translucides ou opaques entourées d'une zone d'hémolyse de type bêta. D'autres bactéries peuvent présenter le même type d'hémolyse : les *Listeria*, les staphylocoques hémolytiques, *Escherichia coli* et les *Pseudomonas*. Il est donc nécessaire de pratiquer des colorations de Gram pour confirmer les résultats.

Il est possible de réaliser le test de CAMP sur le milieu additionné de 5% de sang de mouton de la manière suivante :

- Ensemencer en une seule stries médiane une culture de 10 heures de *Staphylococcus aureus* ATCC® 33862 bêta-hémolytique.
- Perpendiculairement à la strie initiale, faire une strie de culture du microorganisme à déterminer, de façon à s'en approcher le plus possible (2 à 3 mm) sans toutefois l'atteindre.

Les streptocoques du groupe B produisent une substance extracellulaire thermorésistante (CAMP factor) qui provoque un triangle d'hémolyse totale dans la zone d'hémolyse incomplète du staphylocoque, à la jonction des deux cultures.

Les pneumocoques apparaissent sous forme de colonies plates, lisses, grisâtres et parfois muqueuses entourées d'une zone d'hémolyse étroite, verdâtre, de type alpha.

Les staphylocoques donnent des colonies opaques jaune doré ou blanches avec ou sans zone d'hémolyse de type bêta.

Les *Listeria* présentent de petites zones d'hémolyse bêta.

Les autres germes non pathogènes peuvent également cultiver sur ce milieu non sélectif.

FORMULE - TYPE du milieu de base

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

Tryptone ....15 g
Peptone papaïnique de soja ....5 g
Chlorure de sodium ....5 g
Agar agar bactériologique ....15 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre blanc crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé (avec 5% de sang de mouton défibriné) : gélose rouge, opaque
- Réponse culturale typique après 48 heures d'incubation à 37°C (méthode qualitative d'ensemencement) :

Microorganismes		Croissance	Nature de l'hémolyse
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6303	bonne, score 2	alpha
Streptococcus pyogenes	ATCC 19615	bonne, score 2	bêta
Listeria monocytogenes	CIP 79.31	bonne, score 2	bêta
Listeria monocytogenes	CIP 59.53	bonne, score 2	bêta
Bacillus cereus	ATCC 11778	bonne, score 2	
(1)*Enterococcus faecalis*	CCM 2541	bonne	N/A
(1)*Legionella pneumophila*	ATCC 35152	inhibée	

(1) 72 heures d'incubation à 36°C (méthode qualitative d'ensemencement). Hémolyse non-applicable.

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30°C.
La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu de base préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en boîtes (avec sang de mouton) : 1 mois à 2-8°C (à titre indicatif).

PRESENTATION

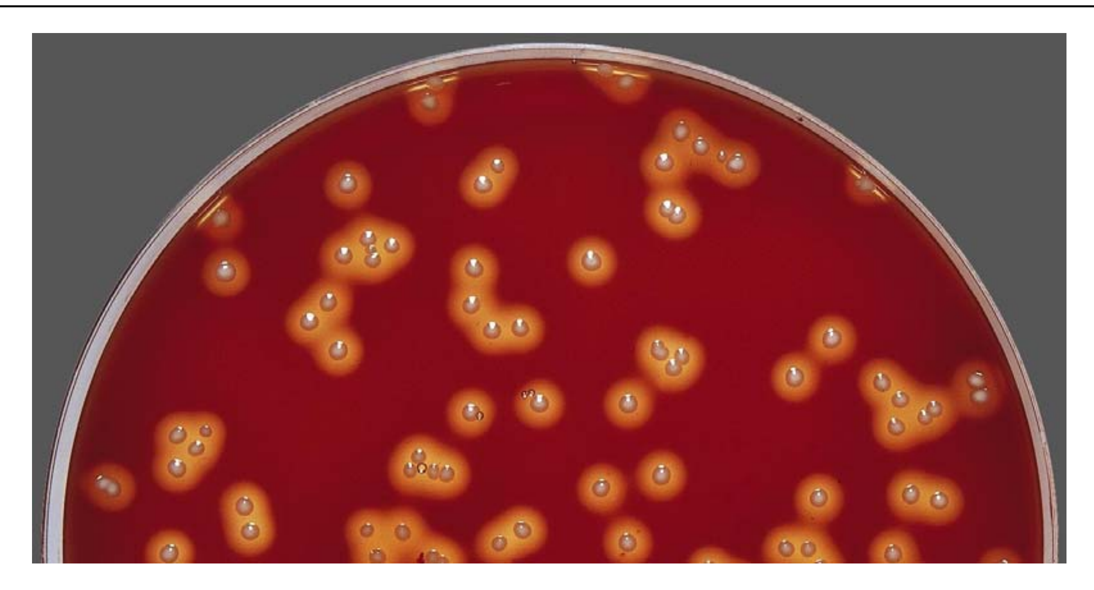
	Code
Milieu de base déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK028HA

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

Référence produit : BK028HA

Utilisation : Mise en évidence des réactions hémolytiques et de la croissance des germes exigeants.



Streptocoques Groupe D (β-hémolyse)

Gélose Tryptone-soja (base au sang)
Réf : **BK028HA**
Incubation : 24 heures / 37°C
Caractéristiques : β-hémolytique : zones d'éclaircissement bien définies et claires;
α-hémolytique : zones d'éclaircissement incomplètes avec une coloration verdâtre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

FACKLAM, R.R., and CAREY, R.B.. 1985. *Streptococci* and *Aerococci* in LENNETTE, E.H., BALOWS, A., HAUSLER, W.J., and SHADOMY, H.J. (ed). Manual of Clinical Microbiology 4 th Ed., ASM Washington DC, 154-175.

MacFADDIN, J.F.. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams & Wilklins, Baltimore, volume 1: 794-806.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF T 90-461. Juillet 2001 et NF T 90-461/A1. Juin 2005. Qualité de l'eau. Microbiologie. Contrôle qualité des milieux de culture.

ISO 21871. Janvier 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présumés en petit nombre. Technique du nombre le plus probable et méthode de recherche.

NF T 90-431. Septembre 2003 et NF T 90-431/A1. Avril 2006. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement de *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila*. Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation.

Code document : BK028/F/2003-01 : 7.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr